

# 卵巣摘出ラットの骨密度に対する スタチン長期投与に関する研究

寺島 信一

## Study of Long-term Treatment of a Statin on Bone Mineral Density of Ovariectomized Rats

Shinichi TERASHIMA

Atorvastatin inhibits synthesis of mevalonate in cholesterol biosynthesis pathway. Statins such as atorvastatin stimulate osteoblast differentiation and enhance mineralization *in vitro*. The present study was undertaken to investigate the *in vivo* effect of atorvastatin on bone mineral density (BMD) in ovariectomized (OVX) rats. Atorvastatin, vehicle,  $17\beta$ -estradiol ( $E_2$ ) and human parathyroid hormone (1-34) [hPTH(1-34)] were subcutaneously injected four times a week for 8-12 weeks in OVX rats. Atorvastatin (2mg/kg) alone did not alter BMD of the mandible and the lumbar vertebra in OVX rats. The combination of atorvastatin (2mg/kg) and  $E_2$  ( $10\mu$ g/kg) during 12week treatment significantly increased BMD of molar region in the mandible and the lumbar vertebra. Concomitant injections of atorvastatin (2mg/kg) with hPTH (1-34) ( $1\mu$ g/kg) for 8 weeks significantly increased BMD of molar region of the mandible and the lumbar vertebra. These findings demonstrate that chronic administration of atorvastatin augments BMD of trabecular bone-rich regions such as molar portion of the mandible and the lumbar vertebra in OVX rats treated with submaximal dose of  $E_2$  and hPTH(1-34).

Key words : statins, bone mineral density,  $17\beta$ -estradiol, parathyroid hormone

### 緒 言

骨粗鬆症は骨の化学的組成に変動はないものの骨量が減少し、骨組織の微小構造が荒廃した状態である。すなわち、海綿骨の細小化や離断でその連続性が失われ、骨の脆弱化が増し、容易に骨折を来す。骨の強度は量、質および構造の3つの要素に依存し、臨床的診断にはDEXA法 (dual energy X-ray absorptiometry) が用いられる。

高齢化に伴い、骨粗鬆症の罹患率が高まり、この疾患に対する社会的関心が高まってきている。加齢に伴い発症する原発性の骨粗鬆症は退行期骨粗鬆症と呼ばれ、その大部分を占めるのは閉経期骨粗鬆症と呼ばれる。51歳~75歳までの女性に多く見られる閉経期骨粗鬆症は、エストロゲン欠乏に伴い骨吸収が亢進し、骨形成が充分促進していないため、結果的に骨量が減少する疾患である。閉経後骨粗鬆症の実験モデルとして卵巣摘出ラット

受付：平成17年3月9日，受理：平成17年4月6日  
奥羽大学大学院歯学研究科歯内歯周療法専攻  
(指導：堀内 登教授)

Ohu University Graduate School of Dentistry,  
Endodontics and Periodontics Major  
(Director : Prof. Noboru HORIUCHI)

が用いられる<sup>1)</sup>。

閉経後骨粗鬆症治療薬として、エストロゲン製剤や活性化ビタミンD製剤、ビスフォスホネート製剤が処方されている<sup>2)</sup>。しかしながらこれら薬剤は、骨吸収を抑制する薬剤か、あるいはそれに関連した作用のある薬剤である。一方、積極的に骨の形成を促進させる薬剤は現在開発中である。

Mundyら<sup>3)</sup>は骨芽細胞において骨誘導因子(BMP-2)の遺伝子発現を促進する天然物質を30,000種類以上スクリーニングした。その結果、スタチン類は骨芽細胞のBMP-2の遺伝子発現を促進し、これを動物に投与すると骨形成を促進させることを見出した。スタチン類はリポバス(シンバスタチン)、メバロチン(プラバスタチン)やリピトール(アトルバスタチン)が高コレステロール血症治療薬として世界中に広く臨床的に用いられている。スタチン類はコレステロール合成経路の律速酵素である3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA)還元酵素の特異的阻害剤であり、HMG-CoAからメバロン酸への反応を強く抑制する<sup>4)</sup>。また、最近では、スタチンは高コレステロール血症治療薬としてではなく、動脈硬化の予防と治療作用<sup>5)</sup>や免疫抑制作用<sup>6)</sup>などを発現し、その作用が多岐に渡る可能性が注目されている。

前田らは*in vitro*の実験で、スタチン類が骨芽細胞の分化を促進し、石灰化を著しく亢進させることを見出した<sup>7)</sup>。本研究では、卵巣摘出ラットを用いて高コレステロール血症治療薬として広く用いられているスタチン、すなわちアトルバスタチンの骨形成促進作用についてその他の薬剤との併用投与を長期的に行い、*in vivo*における効果の検討を行った。

## 材料および方法

### 1. 実験動物

本実験では6週齢のSprague-Dawleyラット(日本クレア, 東京)(以下SD系ラットと略す)を用いた。飼育環境は奥羽大学歯学部動物実験施設で室温24°C, 明期14時間, 暗期10時間の明暗サイクルの環境下とした。通常固形食と水道水を自由に摂取させて飼育を行った。

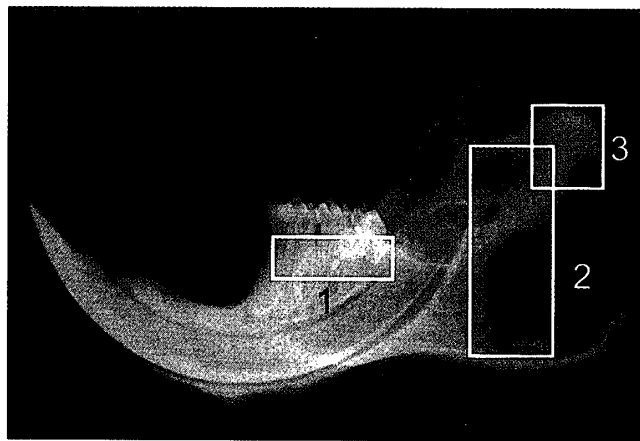


図1 下顎骨骨密度の測定部位

下顎歯槽骨(1), 下顎枝(2), 下顎頭(3)の3部位について測定を行った。下顎歯槽骨は歯槽骨頂より歯軸方向に2mm, 近遠心方向に7mmの範囲を測定範囲とした。下顎枝は関節突起近心縁を基準とし, 近遠心に5mm上下に9mmの範囲を測定部位とした。また下顎頭は下顎頭を含む前後5mmの範囲を測定部位とした。

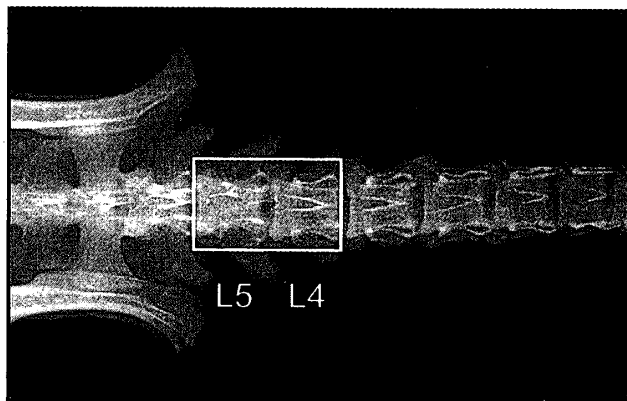


図2 腰椎骨骨密度の測定部位

腰椎骨の第4腰椎から第5腰椎までを骨密度の測定範囲とした。

## 2. 投与薬剤と実験方法

### 1) 実験1

SD系雌ラット40匹を用い, 8週齢でOVXを施し, 2週間後の10週齢で上顎左右臼歯部の抜歯を行った<sup>8)</sup>。OVX及び左右臼歯部の抜歯を行ったラットを5群8匹ずつに分類した。14週齢から8週間, 各群にアトルバスタチン(山之内製薬, 東京), あるいはhPTH(1-34)(Peptide institute, 大阪)を, もしくはvehicleを週4回皮下投与した。実験群はhPTH(1-34)を1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重で投与した(PTH low-dose)群, hPTH(1-34)を17.5  $\mu\text{g}/$

kg体重で投与した (PTH high-dose) 群, アトルバスタチンを 2 mg/kg体重で投与した群, アトルバスタチン 2 mg/kg体重およびPTH low-doseを併用投与した群とした。対照群は生理食塩水に 0.1Mの酢酸を添加した溶液投与をvehicle群とした。投与法は 1 mlシリンジ (マイJECTター29G, テルモ, 東京) を用いて皮下投与を行った。22週齢でエーテル麻酔下にて下顎骨, 腰椎を摘出して骨密度の測定,  $\mu$ CT分析を行った。

## 2) 実験 2

SD系雌ラット32匹を用い, 8週齢でOVXを施し, 2週間後の10週齢で上顎左右臼歯部の抜歯を行った。OVX及び左右臼歯部の抜歯を行ったラットを4群8匹ずつに分類した。14週齢から12週間, 各群にアトルバスタチン, あるいは $17\beta$ エストラジオール ( $E_2$ ) (シグマ, セントルイス, MO) を, もしくはvehicleを週4回皮下投与した。実験群はアトルバスタチンを 2 mg/kg体重で投与した群,  $E_2$ を 10  $\mu$ g/kg体重で投与した群, アトルバスタチン 2 mg/kg体重および $E_2$  10  $\mu$ g/kg体重を併用投与した群とした。対照群として, 20%DMSOをvehicle群とした。投与法は 1 mlシリンジを用いて皮下投与を行った。26週齢でエーテル麻酔下にて下顎骨, 腰椎を摘出して骨密度の測定,  $\mu$ CT分析を行った。

## 3. 手術方法

8週齢時にペントバルビツールナトリウム (50 mg/kg) を腹腔内投与し, 全身麻酔下にて腹部より卵管を含んだ卵巣摘出手術 (以下OVX) を施した。OVXから2週間後, ペントバルビツールナトリウム (50mg/kg) を腹腔内投与し, 全身麻酔下にて歯科用エキスカベータを用いて左右上顎臼歯部を抜歯した。

## 4. 骨密度と測定部位

下顎骨骨密度を図1に示すように, 下顎歯槽骨, 下顎枝, 下顎頭の3部位についてDEXA法を用いて測定を行った。下顎歯槽骨は歯槽骨頂より歯軸方向に 2 mm, 近遠心方向に 7 mmの範囲を測定範囲とした。下顎枝は関節突起近心縁を基準とし, 近遠心に 5 mm上下に 9 mmの範囲を測定部位とした。また下顎頭は下顎頭を含む前後 5 mmの範囲を測定部位とした。腰椎骨密度を図2に示すように, 第

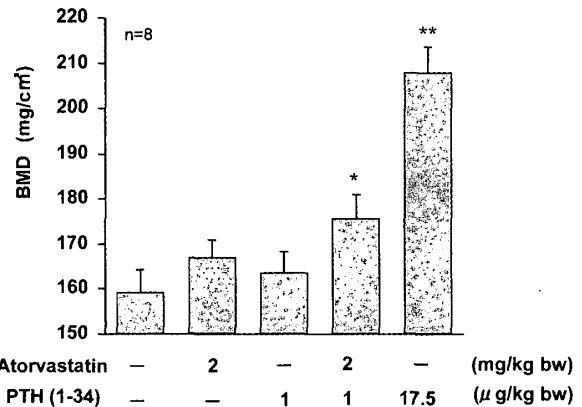


図3 アトルバスタチンおよびhPTH(1-34)投与に対する下顎歯槽骨の骨密度の影響

OVXラットにアトルバスタチンは 2 mg/kg体重で調整し, hPTH(1-34)は 1, 17.5  $\mu$ g/kg体重で調整し, 週4回8週間にわたり皮下投与し, 下顎歯槽骨の骨密度について測定を行った。\* ( $p < 0.05$ ), \*\* ( $p < 0.01$ )はコントロールであるvehicleとの差が有意であることを示す。

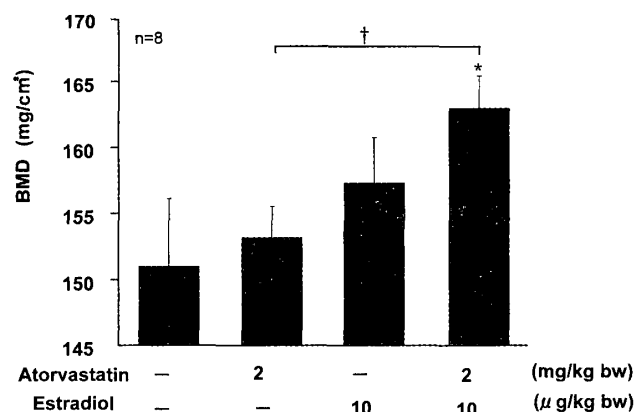


図4 アトルバスタチンおよび $E_2$ 投与に対する下顎歯槽骨の骨密度の影響

OVXラットにアトルバスタチンは 2 mg/kg体重で調整し,  $E_2$ は 10  $\mu$ g/kg体重で調整し, 週4回12週間にわたり皮下投与し, 下顎歯槽骨の骨密度について測定を行った。\* ( $p < 0.05$ )はコントロールであるvehicleとの差が有意であることを示す。† ( $p < 0.05$ )はアトルバスタチンと $E_2$ の併用投与群との差が有意であることを示す。

4~5腰椎について測定した。骨密度の測定はデントメータ (DCS-600型, アロカ, 東京) を用い, DEXA法によりそれぞれの骨密度を測定した。

## 5. $\mu$ CT分析

左側下顎骨を屠殺時に4°C70%エタノールで保存し、 $\mu$ CTスキャナ（島津製作所，京都）を用いてスキャンした。42  $\mu$ mの厚さで2D下顎骨の水平断の断層画像を作成し（CT-Solver，島津製作所，京都），それらデータから分析ソフトウェア（Vox Blast，Vay Tek，Inc，Iowa；U.S.A.）を用いて前頭断3D画像を構成した。

## 6. 統計解析

データは平均値±標準誤差で表記した。検定はStudent-Newman-Keuls testを使用した。P値が5%未満のとき統計学的に有意差があるとみなした。統計処理にはystat2004（医学図書出版，東京）を用いた。

## 結 果

### 1. 下顎骨の骨密度変化

図1に下顎骨の骨密度の測定部位を示す。下顎歯槽骨，下顎枝，下顎頭において骨密度の変化について計測を行った。下顎歯槽骨の骨密度の変化に対するアトルバスタチンおよびPTH投与の効果，アトルバスタチンおよび $E_2$ の効果に関する結果を示す（図3，4）。コントロールと比較して，PTH low-dose単独投与群，アトルバスタチン単独投与群において有意な差が認められなかったが，PTH low-doseとアトルバスタチン併用投与群において有意な骨密度の増加が認められた（ $p < 0.05$ ）。また，コントロールと比較して，ポジティブコントロールとなるPTH high-dose投与群において有意な骨密度の増加が認められた（ $p < 0.01$ ）（図3）。コントロールと比較して，アトルバスタチン単独投与群， $E_2$ 単独投与群において有意な差が認められなかったが，アトルバスタチンと $E_2$ の併用投与群において有意な骨密度の増加が認められた（ $p < 0.05$ ）。また，アトルバスタチンと $E_2$ の併用投与群とアトルバスタチン単独投与群との間に有意な差が認められた（ $p < 0.05$ ）（図4）。

下顎枝の骨密度の変化に対するアトルバスタチンおよびPTH投与の効果，アトルバスタチンおよび $E_2$ の効果に関する結果を示す（図5，6）。コントロールと比較して，PTH low-dose単独投与群，アトルバスタチン単独投与群において有意

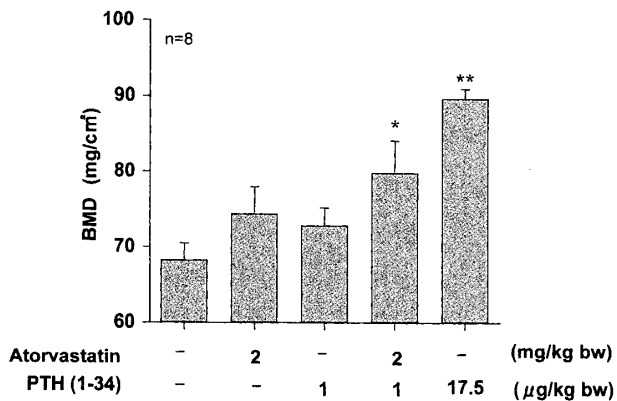


図5 アトルバスタチンおよびhPTH(1-34)投与に対する下顎枝の骨密度の影響

OVXラットにアトルバスタチンは2 mg/kg体重で調整し，hPTH(1-34)は1，17.5  $\mu$ g/kg体重で調整し，週4回8週間にわたり皮下投与し，下顎枝の骨密度について測定を行った。\* ( $p < 0.05$ )，\*\* ( $p < 0.01$ )はコントロールであるvehicleとの差が有意であることを示す。

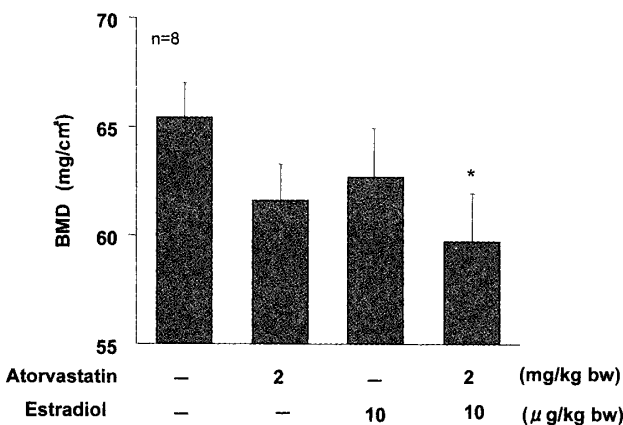


図6 アトルバスタチンおよび $E_2$ 投与に対する下顎枝の骨密度の影響

OVXラットにアトルバスタチンは2 mg/kg体重で調整し， $E_2$ は10  $\mu$ g/kg体重で調整し，週4回12週間にわたり皮下投与し，下顎枝の骨密度について測定を行った。\* ( $p < 0.05$ )はコントロールであるvehicleとの差が有意であることを示す。

な差が認められなかったが，PTH low-doseとアトルバスタチンの併用投与群において有意な骨密度の増加が認められた（ $p < 0.05$ ）。また，コントロールと比較して，PTH high-dose投与群において有意な骨密度の増加が認められた（ $p < 0.01$ ）（図5）。コントロールと比較して，アトルバス

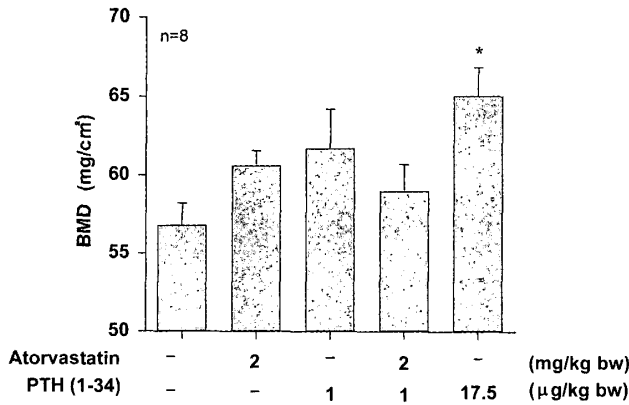


図7 アトルバスタチンおよびhPTH(1-34)投与に対する下顎頭の骨密度の影響

OVXラットにアトルバスタチンは2 mg/kg体重で調整し、hPTH(1-34)は1, 17.5 µg/kg体重で調整し、週4回8週間にわたり皮下投与し、下顎頭の骨密度について測定を行った。\*(p<0.05)はコントロールであるvehicleとの差が有意であることを示す。

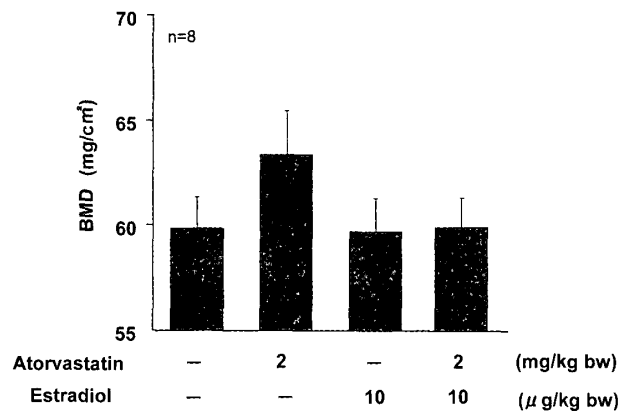


図8 アトルバスタチンおよびE<sub>2</sub>投与に対する下顎頭の骨密度の影響

OVXラットにアトルバスタチンは2 mg/kg体重で調整し、E<sub>2</sub>は10 µg/kg体重で調整し、週4回12週間にわたり皮下投与し、下顎頭の骨密度について測定を行った。

タチン単独投与群、E<sub>2</sub>単独投与群において有意な差が認められなかった。アトルバスタチンとE<sub>2</sub>の併用投与群において有意な骨密度の低下が認められた (p<0.05) (図6)。

下顎頭の骨密度の変化に対するアトルバスタチンおよびPTH投与の効果、アトルバスタチンおよびE<sub>2</sub>の効果に関する結果を示す (図7, 8)。コントロールと比較して、PTH low-dose単独投

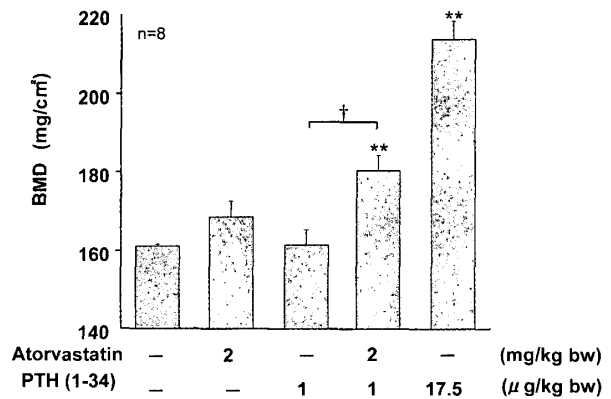


図9 アトルバスタチンおよびhPTH(1-34)投与に対する腰椎骨の骨密度の影響

OVXラットにアトルバスタチンは2 mg/kg体重で調整し、hPTH(1-34)は1, 17.5 µg/kg体重で調整し、週4回8週間にわたり皮下投与し、腰椎骨の骨密度について測定を行った。\*\*(p<0.01)はコントロールであるvehicleとの差が有意であることを示す。†(p<0.05)はアトルバスタチンとPTH low-doseの併用投与群との差が有意であることを示す。

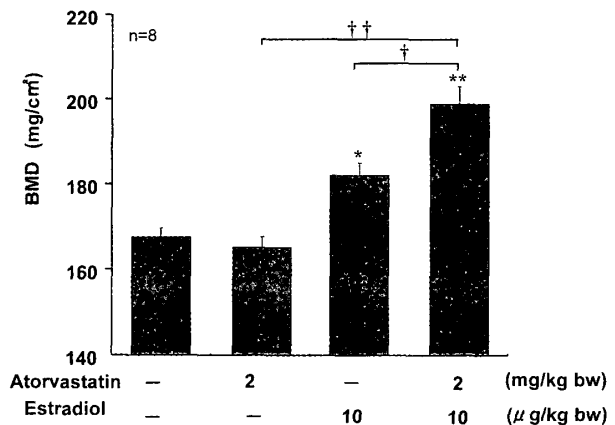


図10 アトルバスタチンおよびE<sub>2</sub>投与に対する腰椎骨の骨密度の影響

OVXラットにアトルバスタチンは2 mg/kg体重で調整し、E<sub>2</sub>は10 µg/kg体重で調整し、週4回12週間にわたり皮下投与し、腰椎骨の骨密度について測定を行った。

\*(p<0.05), \*\*(p<0.01)はコントロールであるvehicleとの差が有意であることを示す。†(p<0.05), ††(p<0.01)はアトルバスタチンとE<sub>2</sub>の併用投与群との差が有意であることを示す。

与群、アトルバスタチン単独投与群、PTH low-doseとアトルバスタチンの併用投与群において有意な差が認められなかった。コントロール

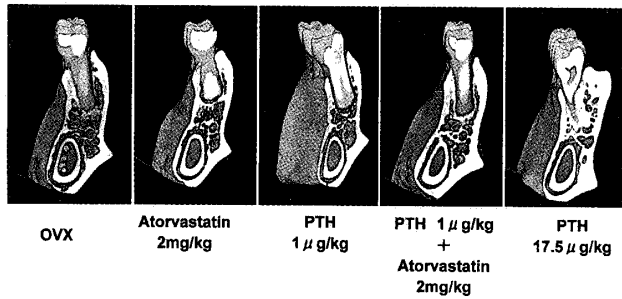


図11 アトルバスタチンおよびhPTH(1-34)投与における下顎歯槽骨の $\mu$ CT像

OVXラットにアトルバスタチンは2mg/kg体重で調整し、hPTH(1-34)は1, 17.5 $\mu$ g/kg体重で調整し、週4回8週間にわたり皮下投与した群における下顎歯槽骨の $\mu$ CT像を図として示す。

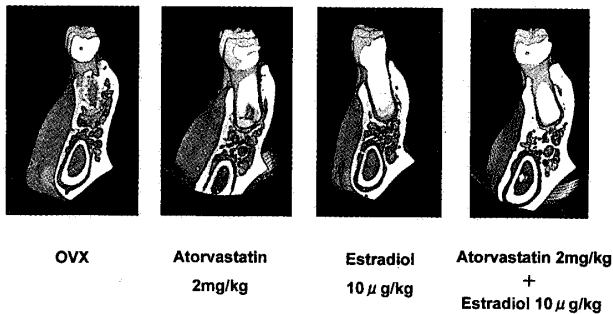


図12 アトルバスタチンおよびE<sub>2</sub>投与における下顎歯槽骨の $\mu$ CT像

OVXラットにアトルバスタチンは2mg/kg体重で調整し、E<sub>2</sub>は10 $\mu$ g/kg体重で調整し、週4回12週間にわたり皮下投与した群における下顎歯槽骨の $\mu$ CT像を図として示す。

と比較して、PTH high-dose投与群において有意な骨密度の増加が認められた ( $p < 0.05$ ) (図7)。コントロールと比較して、アトルバスタチン単独投与群、E<sub>2</sub>単独投与群、アトルバスタチンとE<sub>2</sub>の併用投与群において有意な差が認められなかった (図8)。

## 2. 腰椎の骨密度変化

図2に腰椎の骨密度測定部位を示す。第4～5腰椎部の骨密度の変化に対するアトルバスタチンおよびPTH投与の効果、アトルバスタチンおよびE<sub>2</sub>の効果に関する結果を示す (図9, 10)。コントロールと比較して、PTH low-dose単独投与群、アトルバスタチン単独投与群において有意な差が認められなかったが、PTH low-doseとアト

ルバスタチン併用投与群において有意な骨密度の増加が認められた ( $p < 0.01$ )。また、コントロールと比較して、ポジティブコントロールとなるPTH high-dose投与群において有意な骨密度の増加が認められた ( $p < 0.01$ )。なお、PTH low-dose単独投与群と、PTH low-doseとアトルバスタチンの併用投与群との間に有意な差が認められた ( $p < 0.05$ ) (図9)。

コントロールと比較して、アトルバスタチン単独投与群において有意な差が認められなかったが、E<sub>2</sub>単独投与群、アトルバスタチンとE<sub>2</sub>の併用投与群において有意な骨密度の増加が認められた (Control vs E<sub>2</sub>, Control vs Atorvastatin+ E<sub>2</sub>;  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ )。また、アトルバスタチンとE<sub>2</sub>の併用投与群と比較して、アトルバスタチン単独投与群、E<sub>2</sub>単独投与群、それぞれとの間に有意な差が認められた (Atorvastatin+ E<sub>2</sub> vs Atorvastatin, Atorvastatin+ E<sub>2</sub> vs E<sub>2</sub>;  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ) (図10)。

## 3. 下顎歯槽骨 $\mu$ CT分析

下顎歯槽骨における $\mu$ CT像を図11, 12に示す。なお、断層面は下顎第一臼歯遠心面にて前頭断した。コントロールにおいて、皮質骨は菲薄で海綿骨も疎であることがわかる。アトルバスタチン単独投与群、PTH low-dose単独投与群ではコントロールと比較して改善傾向がみられなかった。しかしながら、PTH low-doseとアトルバスタチン併用投与群において、皮質骨の肥厚化、海綿構造の改善がみられた。なお、ポジティブコントロールのPTH (high-dose) の単独投与群において著明な骨構造の改善が認められた (図11)。

アトルバスタチン単独投与群、E<sub>2</sub>単独投与群ではコントロールと比較すると改善傾向がみられなかった。アトルバスタチンとE<sub>2</sub>の併用投与群においては皮質骨の肥厚化、海綿構造の改善が認められた (図12)。

## 考 察

本実験において、アトルバスタチンに、低用量のhPTH(1-34) 1 $\mu$ g/kgあるいはE<sub>2</sub>(10 $\mu$ g/kg)と併用し、長期的投与におけるOVXラットの腰椎、下顎骨BMDの評価を行った。

海綿骨は皮質骨と比べてホルモンや薬剤に対して、より高い感受性が認められ、本実験においてもアトルバスタチンに対する効果は海綿骨の豊富な部位においてより強く認められた。*in vitro*においてスタチンはラット頭蓋骨の骨形成を促進した<sup>3)</sup>。前田ら<sup>7,8)</sup>はスタチンがMC3T3-E1細胞においてBMP-2, アルカリフォスファターゼ, コラゲナーゼのような骨芽細胞分化マーカーを誘導する能力があることを見出した。さらに、シンバスタチンがMC3T3-E1細胞におけるVEGF発現を増加させ、スタチンが局所で活性化するVEGFのような脈管形成因子の上昇によって骨形成と修復を刺激することが示された<sup>9)</sup>。

以上の報告から、スタチンはコレステロール合成系のHMG-CoA還元酵素を抑制し、骨芽細胞内のメバロン酸濃度を著明に低下させる。この結果、ゲラニルゲラニル-ピロリン酸などのイソプレノイドの低下により、RhoAなどのSmall GTPaseの活性化を低下させる。この活性低下がBMP-2の遺伝子発現の上昇を引き起こし、アルカリフォスファターゼ、骨シアロタンパク質、さらにオステオカルシンの発現亢進をもたらす。その結果、骨芽細胞の分化が促進される。更に、スタチンによるSmall GTPaseの活性の低下は、フォスファジリノシトール-3キナーゼ系を活性化し、恐らくendothelial nitric oxide synthetaseの発現亢進を介してVEGFの発現が促進される。VEGFは血管新生を亢進させるとともに、骨芽細胞も促進させる。このようにスタチンは骨形成促進因子であるBMP-2やVEGFの発現促進を介して骨芽細胞の分化を促進し、石灰化を強く上昇させる。

今回の報告において、異なる種類のスタチンを用いずに、アトルバスタチンを選択した。その理由として、アトルバスタチンは他のスタチンと比較して、長い半減期があるためである。投与に使用されるアトルバスタチンの投与量(2 mg/kg)は、ヒトを用いた臨床研究結果に基づき、生物学上同等の投与量であるためである<sup>9)</sup>。アトルバスタチン単独投与では、OVXラットのBMDおよび海綿骨量の増加はみられなかった。本実験と類似したOVXラットを用いた研究におけるシンバス

タチンおよびアトルバスタチンの投与量においても、腰椎骨、大腿骨のBMDに影響を与えなかった<sup>10)</sup>。同様に、アトルバスタチンを高用量(10mg/kg)で10週間投与した結果においてもBMDの増加は認められなかった(データ未掲載)。アトルバスタチンとE<sub>2</sub>, あるいはhPTH(1-34)との併用によって、著明に腰椎骨、下顎骨、特に歯槽骨領域におけるBMDを上昇させることがわかった。本研究結果により、アトルバスタチンは骨吸収抑制剤であるE<sub>2</sub>およびhPTH(1-34)などの骨同化作用のある薬剤との併用により、海綿骨の形成を上昇させることが示唆された。DEXAや $\mu$ CT分析において、有効量のhPTH(1-34)の長期的投与が、海綿骨だけでなく、下顎枝のような皮質骨が豊富な組織においても骨形成を増加させることを示し、それはまた過去の報告<sup>11)</sup>と一致している。

臨床において人の骨塩量測定に広く用いられているDEXAが改良され、ラットなどの小動物の骨密度を正確に測定できるようになってきた<sup>12,13)</sup>。DEXAを用いると、卵巣摘出することにより、エストロゲンが欠乏した雌ラットは、卵巣を持つ雌ラットに比べ有意に骨密度が低下していく。現在では卵巣摘出ラットが退行期骨粗鬆症の大部分を占める閉経後骨粗鬆症の実験モデルとして一般に用いられている<sup>14,15)</sup>。Elovicら<sup>16,17)</sup>によると、卵巣摘出手術によって、ラット下顎骨の骨密度にそれほど影響を及ぼさないが、上顎臼歯を抜去し、下顎臼歯部に生理的な機能圧がかからない状態にすることで、骨密度の急激な減少が認められると報告されている。一般にエストロゲンの低下によって、骨代謝における骨吸収が優位になり、骨形成の抑制が認められる。しかし、下顎歯槽骨ではエストロゲンの欠乏と生理学的な機能圧が加わらないこととがあいまって、正常な骨芽細胞の分化や増殖が障害されることにより、骨形成の抑制が認められると考えられている。以上のことから、上顎臼歯を抜去したOVXラットは下顎歯槽骨における骨形成に影響を及ぼす薬剤を評価する上で適切なモデルであると考えられる。

一方下顎枝では、上顎臼歯抜去を行ったOVXラットにおいても、下顎歯槽骨と比較して高濃度のPTH間歇投与によりはじめて骨密度の増加を

見せた。これは、下顎枝が海綿骨よりも皮質骨の割合が高いため、PTHの骨形成作用に対する感受性が低く、骨密度の増加がさほど認められなかったと考えられる。なお、骨頭部においては下顎歯槽骨、下顎枝と比べ、より感受性が低い傾向がみられた<sup>18,19)</sup>。

また下顎骨は発生学的にも特殊である点を考えると興味深い。下顎骨の大部分は膜性骨化によって形成され、関節突起部だけは軟骨性骨化により形成される。これらの両者が融合し下顎骨となる。下顎骨は歯を付着している。以上の点からも下顎骨は腰椎とは形態学的、発生学的に大きく相異している。しかし、アトルバスタチンの骨形成促進効果はあまり強くないため、海綿骨の少ない下顎頭で低用量のhPTH(1-34)やE<sub>2</sub>の併用によって、骨密度の増加効果は見られなかった。hPTH(1-34) high-doseでのみ骨密度の増加が認められた。これらの結果から、下顎頭は骨代謝の改善薬に対する感受性は低いと考えられた。

本研究結果から、下顎歯槽骨の骨密度の増加作用に対する効果を見ると、アトルバスタチンはPTHあるいはE<sub>2</sub>と併用すると、明らかな骨密度の増加効果を示した。アトルバスタチンによる下顎歯槽骨の骨量増加は $\mu$ CT像によっても確認された。

スタチンは*in vitro*の研究によると、骨芽細胞の分化を強く促進し、石灰化を高める。しかしながら、本研究から、スタチンを*in vivo*で用いると、*in vitro*でみられるような強い骨形成作用は観察されなかった。この、*in vitro*と*in vivo*の実験結果の差異は明らかではない。特にスタチンを経口的に投与すると、80%以上が腸管から吸収されて、すみやかに肝臓で分解される。本研究では、皮下にスタチンを投与したにも関わらず、著明な骨形成促進はみられなかった。皮下投与によっても、大部分のスタチンが肝臓などで分解され、骨組織に十分な濃度のスタチンが到達していないことが伺える。骨に特異的な作用を有するスタチンのアナログの開発が必要である。本研究から明らかなように、hPTH(1-34)のように骨形成過程を促進するホルモンや、17 $\beta$ -エストラジオールのように骨吸収を抑えるホルモンの効果と協調して、骨

量を増加させる。従って、*in vivo*でもスタチンは明らかな骨形成促進作用を有していることを示している。今後、骨代謝調節に対するスタチンとこれらホルモンとの相互作用の機序は解明されなければならない。

骨粗鬆症に罹患した人を対象にして閉経前の歯槽骨の吸収の比較を行った研究<sup>20)</sup>では、閉経前の人と比較して、閉経後の人は閉経後年数と相関関係の傾向がみられ、特に閉経後6年以降、年齢50歳以降に著しい骨吸収が認められたと報告している。Kribbsら<sup>21)</sup>によれば、閉経後骨粗鬆症は、下顎骨体の臨床的な骨密度の減少により、現在歯数の減少する傾向が認められると報告されている。また、骨粗鬆症患者では歯槽骨の吸収が増加しているとする報告<sup>22,23)</sup>や、卵巣を摘出すると歯周病活動度が高くなるとする報告<sup>24-30)</sup>がある。本研究において、スタチンとPTH、E<sub>2</sub>の併用投与は上顎臼歯部を抜歯し、下顎骨の臼歯部に生理的な機能圧が加わらない状態になると、著しい骨密度の減少が認められるOVXラットの歯槽骨部においても骨密度の増加作用が認められた。従って、スタチンとPTHやE<sub>2</sub>の併用投与は骨粗鬆症の治療に役立つ可能性が推測される。また、スタチンの投与が歯科領域においても歯周病の進行抑制や有床義歯、インプラント治療における骨密度の改善に繋がることを期待できる。

## 結 論

高コレステロール血症治療薬であるアトルバスタチンの骨密度に対する作用は

1. 上顎臼歯部を抜歯したラットの下顎骨各部、特に下顎歯槽骨において、コントロールと比べ、アトルバスタチン単独で用いるよりも、副甲状腺ホルモン、あるいは17 $\beta$ -エストラジオールとの併用投与によって有意に骨密度を増加させた。

2. 下顎歯槽骨における骨量増加は、コントロールと比べ、アトルバスタチン単独投与、PTH low-dose単独投与、E<sub>2</sub>単独投与ではそれぞれ有意な違いは認められなかった。

3. 下顎枝において、アトルバスタチンはhPTH(1-34)と併用すると、骨密度を上昇させたが、E<sub>2</sub>との併用により骨密度は低下した。下顎頭



の骨密度はアトルバスタチンの併用投与によって、ほとんど変化しなかった。

4. 全身骨である第4～5腰椎の骨密度に対するアトルバスタチンおよびPTH, E<sub>2</sub>の効果は、下顎歯槽骨と同様の傾向を示した。

以上のことからアトルバスタチンは他の薬剤と併用することで、下顎歯槽骨の骨密度を上昇させることが明らかになった。従って、アトルバスタチンの歯科領域における骨量改善薬としての可能性が示唆された。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なご指導および、ご校閲を賜りました奥羽大学口腔機能分子生物学講座 堀内登教授、川根徹也講師をはじめとした諸先生方、ならびに歯学研究科歯内歯周療法学講座 天野義和教授、歯科保存学歯周病学講座 岡本 浩病院教授に甚大な謝意を表します。また、本研究を遂行するにあたり、統計分析のご助言を頂いた口腔外科学講座 山崎信也助教授、 $\mu$ CTの研究をご指導頂いた福島県ハイテクプラザ 橋本政靖博士に深く感謝致します。また、多方面からご協力を頂きました奥羽大学歯学部歯科保存学講座、ならびに口腔機能分子生物学講座の諸先生方に深謝致します。

なお、本論文の要旨については、第37回奥羽大学歯学会(平成16年6月 郡山)において発表した。

## 文 献

- 1) Kalu, D. N. : The Ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. Review. Bone Miner **15** ; 175-192 1991.
- 2) Sass, D. A., Liss, T., Bowman, A. R., Rucinski, B. *et al.* : The role of the T-lymphocyte in estrogen deficiency osteopenia. J Bone Miner Res **12** ; 479-486 1997.
- 3) Mundy, G., Garrett, R., Harris, S., Chan, J. *et al.* : Stimulation of bone formation *in vitro* and in rodents by statins. Science **286** ; 1946-1949 1999.
- 4) Guijjarro, C., Blanco-Colio, L. M., Ortego, M., Alonso, C. *et al.* : 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and isoprenylation inhibitors induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in culture. Circ Res **83** ; 490-500 1998.
- 5) Hemelin, B. A. and Turgeon, J. : Hydrophilicity/lipophilicity relevance for the pharmacology and clinical effects of HMG-CoA

- reductase inhibitors. Trends Pharmacol Sci **19** ; 26-37 1998.
- 6) Kwak, B., Mulhaupt, F., Myit, S. and March, F. : Statins as a newly recognized type of immunomodulator. Nat Med **6** ; 1399-1402 2000.
- 7) Maeda, T., Matsunuma, A., Kawane, T. and Horiuchi, N. : Simvastatin promotes osteoblast differentiation and mineralization in MC3T3-E1 cells. Biochem Biophys Res Commun **280** ; 874-877 2001.
- 8) Maeda, T., Matsunuma, A., Kurahashi, I., Yanagawa, T. *et al.* : Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cells. J Cell Biochem **92** ; 458-471 2004.
- 9) Illingworth, D. R. and Tobert, J. A. : A review of clinical trials comparing HMG-CoA reductase inhibitors. Clin Ther **16** ; 366-385 1994.
- 10) Maritz, F. J., Conradie, M. M., Hulley, P. A., Gopal, R. *et al.* : Effect of statins on bone mineral density and histomorphometry in rodents. Arterioscler Thromb Vasc Biol **21** ; 1636-1641 2001.
- 11) Sato, M., Vahle, J., Schmidt, A., Westmore, M. *et al.* : Abnormal bone architecture and biomechanical properties with new-lifetime treatment of rats with PTH. Endocrinology **143** ; 3230-3242 2002.
- 12) Nagy, T. R., Prince, C. W. and Li, J. : Validation of peripheral dual-energy X-ray absorptiometry for the measurement of bone mineral in intact and excised long bone of rats. J Bone Miner Res **16** ; 1682-1687 2002.
- 13) Betrin, E., Ruiz, J. C., Mouro, J., Peiniau, P. *et al.* : Evaluation of dual-energy X-ray absorptiometry for body-composition assessment in rats. J Nutr **128** ; 1550-1554 1998.
- 14) Wronski, T. J., Walsh, C. C. and Ignaszewski, L. A. : Histologic evidence for osteopenia and increased bone turnover in ovariectomized rats. Bone **7** ; 119-123 1986.
- 15) Wronski, T. J., Clintrón, M. and Dann, L. M. : Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovariectomized rats. Calcif Tissue Int **43** ; 179-183 1988.
- 16) Elovic, R. P., Hipp, J. A. and Hayes, W. C. : Ovariectomy decreases the bone area fraction of the rat mandible. Calcified Tissue Int **56** ; 305-310 1995.
- 17) Elovic, R. P., Hipp, J. A. and Hayes, W. C. : Maxillary molar extraction causes increased bone loss in the mandible of ovariectomized rats. J Bone Miner Res **10** ; 1087-1093 1995.
- 18) Okuda, T., Yasuoka, T., Nakashima, M. and Oka, N. : The effect of ovariectomy on the ten-

- poromandibular joints of growing rats. *J Oral Maxillofac Surg* **54** ; 1201-1210 1996.
- 19) Suda, N., Shibata, S., Yamazaki, K. and Kuroda, T. : Parathyroid hormone-related protein regulates proliferation of condyle hypertrophic chondrocytes. *J Bone Miner Res* **14** ; 1838-1847 1999.
- 20) Tezal, M., Wactawski-Wende, J. and Grossi, S. G. : The relationship between bone mineral density and periodontitis in postmenopausal women. *J periodontol* **71** ; 1492-1498 2000.
- 21) Kribbs, P. J., Smith, D. E. and Chesnut, C. H. : Oral finding in osteoporosis Part2 : relationship between residual ridge and alveolar bone resorption and generalized skeletal osteopenia. *J Prosthet Dent* **50** ; 719-724 1983.
- 22) Weyant, R. J., Pearlstein, M. E., Churak, A. P., Forrest, K. *et al.* : The association between osteopenia and periodontal attachment loss in order women. *J Periodontol* **70** ; 982-991 1999.
- 23) Payne, L. B., Reinhardt, R. A. and Nummikiski, P. V. : Longitudinal alveolar bone loss in postmenopausal osteopenic/osteoporotic women. *Osteoporos Int* **10** ; 34-40 1999.
- 24) Salvi, G. E., Lawrence, H. P. and Offenbacher, S. : Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontology 2000* **14** ; 173-201 1997.
- 25) Page, R. C. and Beck, J. D. : Risk assessment for periodontal disease. *Int Dent J* **47** ; 61-87 1997.
- 26) Genco, R. J. : Current views of risk factors for periodontal disease. *J Periodontol* **67** ; 1041-1049 1996.
- 27) Weber, R. L., Wiesen, M. J., Iacono, V. J. and Bear, P. N. : Osteoporosis : a risk for dental implants and in the prognosis of periodontal therapy. *Periodontal Clin Investing* **19** ; 5-8 1997.
- 28) Klemetti, E., Collin, H. L. and Forss, H. : Mineral status of skelton and advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol* **21** ; 184-188 1994.
- 29) von Wowern, N., Klausen, B. and Kollerup, G. : Osteoporosis : A risk factor in periodontal disease. *J Periodontol* **65** ; 1134-1138 1994.
- 30) Mohajery, M. and Brooks. : Oral radiographs in the detection of osteoporosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* **73** ; 112-117 1992.

著者への連絡先：寺島信一，(〒963-8611)郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部歯科保存学講座(歯周病学分野)  
 Reprint requests : Shinichi TERASHIMA, Department of Conservative Dentistry, Division of Periodontics, Ohu University School of Dentistry  
 31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan